

DEPARTAMENTO DE MOLÉSTIAS INFECTUOSAS E PARASITARIAS

Diretor: Prof. Dr. Laerte M. Guimarães

DEPARTAMENTO DE TERAPEÚTICA, FARMACOLOGIA E ARTE DE FORMULAR

Diretor: Prof. Dr. Gabriel S. T. de Carvalho

## A PROVA DA OVULAÇÃO DA COELHA NO DIAGNÓSTICO DA PREENHEZ DA ÉGUA PURO SANGUE INGLÊS

*(Dados obtidos em quatro estações de monta — 1945-1946 a 1948-1949)*

DIAGNOSIS OF PREGNANCY IN THE THOROUGHBRED MARES BY THE  
RABBIT OVULATION TEST.

*(Report of experiments carried out during four breeding seasons — 1945-46 to 1948-49)*

LAERTE M. GUIMARÃES

J. F. TABARELLI NETO  
Livre-Docente

Este trabalho tem por finalidade principal apresentar as observações por nós efetuadas durante um período de quatro anos, sobre a utilização da prova da ovulação da coelha no diagnóstico da prenhez da égua puro sangue inglês. Da estação de monta correspondente a 1949-1950, somente cinco resultados estão incluídos, uma vez que as observações correspondentes àquele período estão agora em andamento.

Muito embora seja relativamente extensa a literatura sobre o assunto, como se vê na revisão feita por COWIE <sup>(1)</sup>, julgamos interessante dar a conhecer não somente os dados obtidos, como também pequenas modificações por nós introduzidas no método original, as quais se nos apresentaram úteis.

COLE e HART <sup>(2-3)</sup>, HART e COLE <sup>(4)</sup> foram os primeiros autores a demonstrar a presença de um hormônio gonadotrófico no sangue da égua prenhe, durante um dado período da gestação. Segundo os dados apresentados por aqueles pesquisadores, a atividade gonadotrófica do sêro tem início aproximadamente dentro do 37.º ao 42.º dias da prenhez; atinge sua atividade máxima entre o 43.º e 80.º dias, para então ir diminuindo gradualmente e desaparecer à medida que o hormônio estrogênico aparece em seu lugar, isto é, por volta do 180.º dia. Estas pesquisas tiveram como animal reagente a rata imatura, reação esta que, além de permitir a importante descoberta acima referida, forneceu um processo se-

guro para a obtenção do diagnóstico precoce da prenhez da égua. Estes achados determinaram considerável interesse e os numerosos trabalhos que foram publicados posteriormente sobre o assunto, vieram não só confirmar as experiências iniciais de COLE e HART, como demonstraram a possibilidade em se utilizar além da camundonga, outros animais como reagentes, dentre os quais salientamos: a rata, a coelha e mais recentemente o sapo e a rã machos (<sup>5-6-7-8-9</sup>).

A prova da ovulação da coelha para o hormônio gonadotrófico sérico, baseia-se na reação de FRIEDMAN-MARTINS, a qual foi idealizada para a obtenção do diagnóstico da gravidez da mulher, isto é, uma prova para o hormônio gonadotrófico coriônico, presente na urina de mulher grávida.

A reação nesta prova está na dependência de certos fatores fisiológicos, aliás bem conhecidos e dentre os quais convém salientar os seguintes:

1 — A ovulação na coelha não é um fenômeno espontâneo e sim provocado, isto é, normalmente é êle desencadeado quer pelo estímulo do coito, quer pela simples presença do macho, ou por vezes pelo estímulo oriundo do ato de uma fêmea subir sobre outra.

2 — A urina de mulher grávida ou o sêro de égua prenhe (durante um determinado período da prenhez), contém um hormônio gonadotrófico capaz de produzir a ovulação quando injetados na coelha, ou melhor, determinam o aparecimento de pontos hemorrágicos ou corpos amarelos no ovário da fêmea injetada, fenômenos êstes tomados como critério de resposta positiva da reação.

CATCHPOLE (<sup>10</sup>), foi um dos primeiros pesquisadores a procurar adaptar a reação de FRIEDMAN-MARTINS no diagnóstico da prenhez da égua, salientando que a coelha era menos favorável, como animal de prova, do que a rata imatura por ser menos sensível ao hormônio gonadotrófico sérico.

No mesmo ano apareceram os trabalhos de MAGNUSSON (<sup>11-12-13-14</sup>), e MARTENSSON (<sup>15</sup>), realçando o valor da reação no diagnóstico da prenhez da égua. Atualmente é grande o número de trabalhos aparecidos sobre o assunto e que preconizam a utilidade da mesma pela sua eficácia. Vêr, LOYOLA (<sup>16</sup>), ARNOLD (<sup>17,18</sup>) e para uma bibliografia mais completa consultar COWIE (<sup>1</sup>).

COLE (<sup>19</sup>), COLE e HART (<sup>20</sup>), trabalhando sobre o assunto, concluíram que a prova da ovulação da coelha é satisfatória se efetuada entre o 49.º e o 84.º

dias da prenhez, um limite, portanto, mais restrito que aquele fornecido pela prova em camundonga ou rata imaturas.

## MATERIAL E MÉTODO

### A. AMOSTRAS DE SÔRO

Empregamos amostras de sôro de égua puro sangue inglês, cuja idade variou entre 3 a 18 anos, pertencentes a diversos haras localizados no Estado de São Paulo, e sob observação clínica periódica.

O número de dias decorridos entre a última cobertura e a sangria foi variável. (Vêr quadro dos resultados). A importância desse fator será desenvolvida no capítulo referente à discussão dos resultados obtidos.

A sangria é feita na veia jugular com agulha hipodérmica medindo 30x20.

O sangue é recolhido em frascos de Erlenmeyer com a capacidade de 125 cm<sup>3</sup>, limpos, secos, porém não esterilizados. Na maioria dos casos, os frascos são conservados à temperatura ambiente até que se processe a retração do coágulo e em seguida são levados à geladeira. O sôro é deles retirado no momento de se injetar a coelha. Atualmente, pelo motivo de irmos fazendo um estudo comparativo entre a prova da ovulação da coelha e a reação de Mainini ou bufo-reação, numa grande parte de amostras, uma vez processada a retração do coágulo, é o sôro retirado do frasco e, assim, separado daquele, é conservado na geladeira. Salvo raras exceções, a prova é feita dentro de 24 a 48 horas após a sangria. No que diz respeito à conservação do sôro, queremos frisar, pelo que temos observado e pelo que já constataram ARNOLD<sup>(17,18)</sup>, e SACHWEH<sup>(21)</sup>, que o hormônio gonadotrófico é altamente resistente aos processos putrefativos. Possuimos algumas provas nas quais as coelhas responderam perfeitamente bem à injeção de amostras de sôro já em início de putrefação e com evidentes sinais de hemólise, que por fatores estranhos à nossa vontade não puderam ser levadas à geladeira, permanecendo desse modo vários dias à temperatura ambiente. Aliás, ARNOLD<sup>(18)</sup>, pôde verificar que o hormônio permanece ativo de 15 a 16 dias na temperatura ambiente, após a sangria. O sôro conservado na geladeira mantém a sua atividade gonadotrófica por vários meses.

### B. TÉCNICA DA PROVA

1. *Condições de manutenção das coelhas de prova. — Exame prévio dos ovários.* — No que diz respeito às condições que devem preencher as coelhas uti-

lizadas como reagentes, a maioria dos autores que tem trabalhado no assunto segue aproximadamente as normas indicadas por FRIEDMAN (<sup>22</sup> e <sup>23</sup>), e que, embora bem conhecidas, damos das mesmas um resumo: indica-se o uso de coelhas sexualmente maduras, de pêso corporal entre 1.500 a 2.500 g, virgens ou que tenham estado separadas do macho por espaço de tempo não inferior a 15 dias e que para maior precaução permaneçam também afastadas de outras fêmeas. Confessamos de início que, dadas as nossas condições materiais, não poderíamos desenvolver as nossas reações caso resolvêssemos seguir estritamente essas normas clássicas. Não possuíamos número suficiente de coelheiras individuais para conservar tôdas as coelhas; tal circunstância nos obrigava a manter juntas uma grande parte das mesmas, de modo que quando delas necessitávamos para o desenvolvimento de uma prova, nunca o fazíamos, sem submetê-las a uma inspeção prévia dos seus ovários.

Por vêzes, coelhas de aquisição recente e tidas como virgens, ao serem submetidas à prova, sem o exame prévio acima mencionado, davam resultados nem sempre de fácil interpretação.

A maneira pela qual pudemos contornar essa dificuldade, foi a de introduzir no método a obrigatoriedade do exame prévio dos ovários. Aliás, esta inspeção ovariana é indicada por LOYOLA (<sup>16</sup>), naquelas coelhas cujas condições de manutenção, anteriores à prova, não sejam perfeitamente conhecidas. FRIEDMAN (<sup>22</sup>), no seu método original para o diagnóstico da gestação da mulher, já indicava êsse exame a fim de serem evitadas as falsas interpretações oriundas de uma ovulação recente.

Para o exame dos ovários é feita uma laparotomia por incisão longitudinal mediana, retro-umbilical, estando a coelha anestesiada por uma mistura de álcool-éter em partes iguais.

As normas a seguir neste exame serão desenvolvidas no capítulo referente à leitura da prova.

A identificação de nossas coelhas é feita por meio de uma chapa metálica numerada, a qual se fixa no pavilhão auricular do animal.

2. *Número de coelhas por prova.* — No nosso trabalho de rotina usamos uma coelha por prova. Dois são os motivos que nos levaram a tomar essa orientação. Em primeiro lugar, o fator econômico e, em segundo lugar, pelo fato de, no nosso serviço de inspeção das éguas reprodutoras, têmos por norma: a)

segundo a importância do caso, repetir a prova em outra coelha quando obtemos um primeiro resultado negativo e b) sempre que possível repetir, em data posterior, o exame daquelas éguas que já tenham dado um resultado negativo, e que pelo seu comportamento não nos forneçam sinais seguros de ausência de prenhez.

O uso de dois animais por prova concorre, segundo a maioria dos autores, para aumentar a segurança da mesma. Baseiam-se, para isso, na possibilidade da existência, embora em pequena percentagem, de coelhas insensíveis ao hormônio gonadotrófico. Apesar de não termos efetuado pesquisas nesse sentido, devemos aqui assinalar que nunca nos foi possível verificar, nas poucas vezes que necessitamos injetar uma mesma amostra de soro em duas coelhas, um resultado discordante. Não queremos, baseados nesses resultados, descrever da existência de coelhas insensíveis à gonadotrofina sérica, contudo somos levados a crer na raridade do fenômeno, que talvez por obra do acaso não pudemos até hoje assinalar.

3. *Injeção do soro.* — a) *Técnica:* — O soro é administrado pela via intravenosa segundo a técnica usual, isto é, na veia marginal do pavilhão auricular, tendo-se o cuidado de não se injetar o soro frio.

No que diz respeito às coelhas reutilizadas, portanto já sensibilizadas por uma injeção prévia de soro, há a possibilidade de se desencadear um choque anafilático fatal ao tomarem nova dose de soro, fato este, aliás, comprovado por nós algumas vezes, principalmente quando a coelha era submetida a um período de repouso mais ou menos curto.

Não orientamos pesquisas nesse sentido, uma vez que tomamos por norma não reutilizar coelhas senão após período de repouso prolongado, isto é, nunca inferior a aproximadamente oito meses. Pudemos assim certificar que esse espaço de tempo age desensibilizando o animal, uma vez que foram raríssimos os casos de choque anafilático observados, após adotarmos a norma acima referida.

Contudo, a reutilização de coelhas com períodos de repouso bem menores é perfeitamente viável, uma vez que as mesmas sejam submetidas a cuidados especiais. Indicamos, a quem se interessar por esta particularidade, os trabalhos de ARNOLD<sup>(18)</sup>, o qual preconiza a administração prévia de adrenalina, ou os relatos de LOYOLA<sup>(16)</sup> e MAGNUSSON<sup>(13)</sup>, que utilizam o próprio soro equino.

b) *Dose de soro a injetar:* — A dose de soro por nós empregada atualmente é de 20 cm<sup>3</sup>. Fazemos duas injeções de 10 cm<sup>3</sup> com 24 horas de intervalo entre uma e outra.

Antes de adotarmos definitivamente a técnica acima referida, aliás a que melhor correspondeu, efetuamos inúmeras pesquisas relativas não somente à dose

de sôro a ser injetada, como também ao número de injeções a ser feito e ao melhor intervalo de tempo entre as mesmas.

No capítulo referente à leitura da prova voltaremos a tecer comentários sobre este ponto.

Consultando a bibliografia a respeito, verificar-se-á ser variável a dose de sôro preconizada pelos diferentes autores, isto naturalmente pelo motivo de ser variável a concentração do hormônio gonadotrófico, no sangue da égua prenha, durante o período em que o mesmo se acha presente. Assim, doses pequenas serão suficientes quando o sangue é retirado na fase de concentração hormonal máxima; doses maiores serão necessárias das amostras de sôro provenientes de sangrias efetuadas em períodos anteriores ou posteriores àquela fase. Isso, sem levarmos em consideração a questão individual, uma vez que podem sofrer variações, de uma égua a outra, não só o valor da concentração do hormônio gonadotrófico no sôro como as próprias datas que limitam o período de concentração hormonal máxima.

Após a primeira injeção de sôro e até o resultado final da prova a coelha é mantida, repetimos, em coelheiras individuais.

4. *Leitura da prova.* — Pelo que pudemos concluir de nossas observações, seguindo, como é claro, o método aqui descrito, a leitura da prova deve ser efetuada 48 horas após a primeira injeção de sôro, submetendo-se a coelha à nova laparotomia. A reação é considerada positiva quando se apresenta pelo menos um folículo hemorrágico em um dos ovários. Nesse último caso, o ovário está aumentado de volume e mais congesto; o folículo hemorrágico apresenta-se como um pequeno ponto saliente, brilhante e de côr vermelha-amora. Com a prática será fácil distinguir o aspecto da gonada acima descrito, daquele que a mesma apresenta quando com folículos hemorrágicos já velhos e resultantes de uma ovulação antiga. Os ovários são de tamanho mais reduzido e de côr amarelada; os folículos hemorrágicos antigos apresentam-se como pontos de côr violácea com tendência ao preto e sem brilho. Estes conhecimentos são, como é claro, indispensáveis, não só para se fazer a leitura da prova, como também para se avaliar a possibilidade de reutilização da coelha, quando do exame prévio dos ovários.

Teceremos a seguir considerações sobre os fatos que nos levaram a estipular, não só, o prazo acima referido para se fazer a leitura da prova, como a orientação dada no que diz respeito à dose e à maneira de administrar o sôro.

No início de nossas pesquisas, ainda naquela fase de tentativas, em busca de uma padronização do método, verificamos inúmeras vezes, ao fazermos a leitura da prova, um tipo de reação, aliás já assinalado por LOYOLA<sup>(16)</sup>, que nos deixava em dúvida quanto ao resultado da mesma, dúvida esta, também sentida pelo autor referido.



Nesta reação nota-se que os ovários, ovidutos e útero estão aumentados de tamanho e hiperêmicos; que há, nos ovários, a presença de folículos terciários, isto é, pontos arredondados, salientes, de cor rósea e translúcidos; porém há ausência absoluta de folículos hemorrágicos, os quais fornecem o critério de positividade da prova.

Com o decorrer de novas pesquisas pudemos nos certificar do seguinte (1.º) — que este tipo de reação era mais freqüente; (a) — quando a amostra de soro provinha de sangrias efetuadas num período ainda muito precoce da suposta prenhez (concentração hormonal baixa), e principalmente se injetado em dose reduzida e única; (b) — quando, por motivo de urgência ou com a finalidade de pesquisa, procurávamos fazer a leitura da prova após haver decorrido curto intervalo de tempo (12-24 h), entre a injeção de soro e a inspeção dos ovários. (2.º) — Que na maioria desses casos se estabelecia uma reação positiva, isto é, o aparecimento de folículos hemorrágicos, era verificado; (a) numa nova inspeção ovariana após espaço de tempo maior (comumente 36 a 48 h), entre a injeção e a leitura; e afinal, (b) que a reação positiva, na maioria dos casos, podia ser desencadeada com maior segurança, ao se fazer uma injeção adicional de soro, da mesma amostra, quando na presença desse tipo de reação.

Convém frisar que por vezes esta reação não se modifica, isto é, folículos hemorrágicos não são verificados numa leitura bem mais tardia, principalmente se a injeção adicional de soro não for feita. Julgamos que a causa desse último acontecimento resida na concentração hormonal baixa do soro injetado. Isso porque, nas vezes que a reação assim se comportou, pudemos verificar que o soro se originava na realidade de uma égua prenha, pois, repetidas as provas, num período mais avançada da prenhez, revelaram-se sempre positivas.

No quadro dos resultados, dois destes tipos de reação estão assinalados como duvidosos — éguas n.º 5 (E.M. 47-48) e n.º 21 (E.M. 46-47).

Como bem se pode ver, são de provas efetuadas em períodos ainda bem precoces da suposta prenhez, isto é, 36 e 35 dias da última cobertura, respectivamente, e que repetidas alguns dias mais tarde (52 e 40), deram reações positivas características.

Tudo nos leva a crer que este tipo de reação possa ser considerado, por si só, como critério de positividade da reação, uma vez que não possuímos provas em contrário. Contudo, sendo ainda reduzido o número de observações que possuímos acerca desse fenômeno, preferimos não emitir, no momento, opinião definitiva a respeito do mesmo.

Continuamos, pois, a adotar como critério de positividade da prova, o aparecimento de folículos hemorrágicos, os quais foram por nós observados com maior segurança, ao seguirmos as orientações dadas, pela técnica que aqui preconizamos.

## QUADRO DOS RESULTADOS OBTIDOS

N.º da égua	Estação de Monta	N.º de dias da última cobertura	Resultado da reação	Confirmação posterior	Observações
1	45-46	68	+	Parto	
"	46-47	39	—		
"	"	53	+	Parto	Nota 1
"	47-48	48	+	Parto	
"	48-49	45	+	Parto	
2	45-46	63	+	Parto	
"	46-47	39	+	Parto	
"	47-48	46	+	Parto	
"	48-49	44	+	Parto	
3	45-46	35-102	—	—	Nota 2
"	46-47	42	—	—	Nota 1
"	"	52	+	Parto	
"	47-48	44-52	—	Cio	
"	"	44	—	—	
"	48-49	44-57-87	—	—	
4	45-46	49	+	Parto	
5	45-46	82	+	Parto	
"	46-47	49	+	Parto	
"	47-48	36	Duvidoso		
"	"	52	+	Parto	Nota 1
6	45-46	35	—		
"	"	125	+	Parto	Nota 1
7	45-46	38	+	Parto	
"	46-47	46	+	Parto	
8	45-46	64	+	Prenhez	Nota 3
9	45-46	60	+	Parto	
"	46-47	41	+	Parto	
"	47-48	64	+	Parto	
"	48-49	48	+	Parto	
10	45-46	41	+	Parto	
"	46-47	47	—	—	
"	47-48	42	—	Cio	
"	"	41	+	Parto	
"	48-49	48	+	Abôrto	
11	45-46	45	—	Cio	
12	46-47	41	—		
"	"	56	+	Parto	Nota 1
"	47-48	48	—		
"	"	56	+	Parto	Nota 1
"	48-49	46	+	Parto	
13	45-46	48	+	Parto	
"	46-47	55	+	—	Falso +
"	47-48	46	+	—	Falso +



QUADRO DOS RESULTADOS OBTIDOS (Continuação)<sup>1</sup>

N.º da égua	Estação de Monta	N.º de dias da última cobertura	Resultado da reação	Confirmação posterior	Observações
14	45-46	70	—	—	
"	46-47	41-86	—	—	
"	47-48	62	+	—	Falso +
"	48-49	77	—	—	
15	45-46	81	+	Parto	
"	46-47	43	+	Parto	
"	47-48	54	+	—	Falso +
"	48-49	62	—	—	
16	45-46	86	—	—	
"	46-47	37	—	—	
"	"	46	+	Abôrito	Nota 1
"	47-48	36	—	Cio	
17	45-46	116	—	Cio	
"	46-47	43	+	Abôrito	
"	47-48	40	+	Parto	
"	48-49	54	+	Parto	
18	45-46	84	—	Cio	
19	45-46	64	—	—	
"	46-47	42	+	Abôrito	
"	47-48	108	+	—	Falso +
"	48-49	49	+	Parto	
20	45-46	90	+	Parto	
"	46-47	40	+	Parto	
"	47-48	47	+	Parto	Nota 4
"	48-49	48-80	—	Abôrito	Falso —
"	48-49	57	+	Parto	
21	45-46	84	+	Parto	
"	46-47	35	Duvidoso	—	Nota 1
"	"	40	+	Prenhez	Nota 3
22	45-46	87	—	Cio	
"	45-46	67	+	Parto	
"	46-47	45-51	—	Cio	
"	47-48	45	+	—	Falso +
"	48-49	51	—	—	
23	45-46	47	—	Cio	
"	46-47	39-106	—	—	
24	45-46	73	+	Abôrito	
"	46-47	101	—	—	
25	45-46	52	—	Cio	
"	46-47	41-51-79	—	—	
"	47-48	46-66	—	Cio	
"	48-49	50-71	—	—	

## QUADRO DOS RESULTADOS OBTIDOS (Continuação)

N.º da égua	Estação de Monta	N.º de dias da última cobertura	Resultado da reação	Confirmação posterior	Observações
26	45-46	46	—	—	Falso +
"	46-47	39	+	—	
"	47-48	43-52-93	+	Parto	
"	48-49	56	+	Abôrto	
27	45-46	45	—	—	
28	45-46	67	—	Cio	
29	45-46	61	+	Parto	
"	46-47	41	+	Parto	
"	47-48	43	+	Parto	
"	48-49	38-45	—	Cio	
"	"	37-58	—	—	
"	49-50	48	—	Cio	
30	46-47	42	+	Parto	
"	47-48	58	+	Parto	
"	48-49	50	+	Parto	
31	46-47	46-52	—	Cio	
32	46-47	43	—	Abôrto Parto Parto	Nota 1
"	"	52	+		
"	47-48	62	+		
"	48-49	48	+		
33	46-47	20-20-30	—	Parto	Nota 1  Falso + Nota 1
"	"	41	+		
"	47-48	42	—		
"	"	53	+		
"	48-49	48-57-87	—	—	
34	46-47	34	—	Parto Parto Cio	Nota 1
"	"	48	+		
"	47-48	43	+		
"	48-49	53-72	—		
"	"	39	—		
"	"	48	+	Parto	Nota 1
35	46-47	58	+	Parto	
"	47-48	48	+	Parto	
"	48-49	52	—	Cio	
36	46-47	48	—	Cio	
"	"	41	—	—	
"	47-48	61	+	Parto	
37	46-47	44	+	Parto	
"	47-48	44	+	Abôrto	
"	"	49	—	—	
"	48-49	44	+	Parto	

## QUADRO DOS RESULTADOS OBTIDOS (Continuação)

N.º da égua	Estação de Monta	N.º de dias da última cobertura	Resultado da reação	Confirmação posterior	Observações
38	46-47	59	+	Parto	
"	47-48	45	+	Parto	
"	48-49	43	+	Parto	
39	46-47	49	+	Parto	
"	47-48	51	+	—	Falso +
"	48-49	43	+	Parto	
40	46-47	37	—		
"	"	65	+	Parto	Nota 1
"	47-48	43	+	Parto	
"	48-49	49	+	Parto	
41	46-47	52	+	—	Falso +
"	47-48	44	+	—	Falso +
"	48-49	51	+	Prenhez	Nota 3
42	46-47	62	+	Parto	
"	47-48	64	+	Parto	
"	49-49	54	+	Parto	
43	46-47	54-66	—	—	
"	47-48	49	+	Parto	
"	48-49	42	+	Parto	
44	46-47	46-59	—	—	
"	47-48	41	+	—	Falso +
"	48-49	49	+	Parto	
"	49-50	46-76	—	Cio	
45	46-47	58	+	Parto	
"	47-48	46	+	Parto	
"	48-49	55	+	Abôrito	
46	46-47	66	+	Parto	
"	47-48	54	+	Parto	
"	48-49	50	+	Parto	
47	46-47	82	+	Parto	
"	47-48	49	+	Parto	
"	48-49	74	—	—	
"	49-50	66	—	Cio	
48	46-47	48	—	—	
"	47-48	48	+	Parto	
"	49-50	45	—	Cio	
49	47-48	38	—		
"	"	49	+	Parto	Nota 1
"	48-49	48	+	—	Falso +
50	47-48	35	—		
"	"	55	+	—	Falso + Nota 1
"	48-49	44	+	Abôrito	
51	47-48	36-42	+	Parto	

## QUADRO DOS RESULTADOS OBTIDOS (Conclusão)

N.º da égua	Estação de Monta	N.º de dias da última cobertura	Resultado da reação	Confirmação posterior	Observações
52	47-48	38-45-55	—	Cio	Nota 1
"	"	51-69	+	Parto	
"	48-49	40	+	Parto	
53	47-48	37	—		
"	"	49	+	Parto	
54	47-48	51	—	—	Nota 1
"	48-49	50	+	Abôrto	
55	48-49	45-52	—	Cio	
"	"	46	—	—	
"	49-50	49	—	Cio	
56	48-49	38	—		Nota 1
"	"	59	+	Parto	
57	48-49	59	+	Parto	
58	48-49	38	+	Abôrto	
59	48-49	64	+	Parto	
60	48-49	48	+	Parto	
61	48-49	53	+	Parto	
62	48-49	56	+	Parto	
63	48-49	40	—	Cio	
64	48-49	64	+	Parto	
65	48-49	73	+	Abôrto	
66	48-49	55	—	Cio	
"	"	46	+	Parto	
67	48-49	70	+	Abôrto	
68	48-49	50	+	Parto	
69	48-49	58	+	Parto	
70	48-49	68	—	—	
71	48-49	66	—	—	
72	48-49	61	+	—	
73	48-49	54	+	Abôrto	
74	48-49	46	+	Parto	Falso +
75	48-49	66	—	—	
76	48-49	64	—	—	
77	48-49	39	+	Parto	

Nota 1 — Reações repetidas com um número maior de dias após a última cobertura.

Nota 2 — O sinal — significa ausência de parto.

Nota 3 — A égua morreu. Prenhez constatada pela necrópsia.

Nota 4 — Deu resultado negativo com noventa e seis (96) dias da última cobertura.

#### RESULTADOS OBTIDOS

Do exame do quadro dos resultados aqui exposto verificamos o seguinte:

A — Num período abrangendo quatro estações de monta, foi examinado um total de 77 éguas;

B — Foram efetuadas 233 reações, computadas, como é lógico, todas aquelas provas que necessitaram ser repetidas.

C — Esse número total de reações nos permitiu a obtenção de 185 resultados, assim distribuídos:

1 — Resultados concordantes: 169, sendo:

- a) Resultados positivos confirmados pelo parto, aborto ou necropsia: 112.
- b) Resultados negativos confirmados pela volta do cio e ausência do parto: 57.

2 — Resultados discordantes: 16, sendo:

- a) Falsos positivos: 15.
- b) Falsos negativos: 1.

A questão da percentagem de eficácia do método será considerada no capítulo referente à discussão dos resultados.

#### DISCUSSÃO

No que diz respeito ao período mais indicado para se fazer o diagnóstico da prenhez pela prova da ovulação da coelha, vimos que COLE (<sup>19</sup>), COLE e HART (<sup>20</sup>), o inclui entre o 49.º e 84.º dias da suposta prenhez. MACNUSSON (<sup>14</sup>), dentro desse mesmo período, obtém somente duas provas discordantes, ao passo que os casos de erro atingem a 5,6% nas reações efetuadas entre o 45.º e 120.º dias. A percentagem de erro atinge cifras maiores quando as provas forem realizadas aquém ou além desses períodos. Verifica, esse mesmo autor, que os aludidos erros não são devidos aos animais reagentes, pois obtém os mesmos resultados quando repete as reações com outras coelhas.

LOYOLA (<sup>16</sup>), estabelece a fase da prenhez, compreendida entre o 50.º e 80.º dias da última cobertura, como a melhor; ao passo que ARNOLD (<sup>18</sup>), a enquadra entre o 45.º e 90.º dias.

Infelizmente, dadas as nossas condições de trabalho, pois que nem sempre se encontravam à nossa disposição, para serem sangradas, as éguas por nós inspecionadas, não pudemos efetuar pesquisas mais numerosas no sentido de estabelecer, com segurança, pelo método que descrevemos, o período mais indicado da prenhez, para a realização da prova. Nessas condições, nosso estudo teve que ser orientado mais para o lado prático, isto é, procurávamos obter, como é claro, um resultado positivo o mais cedo possível. Uma vez obtido êste, só em raros casos pudemos repetir a prova numa data posterior. Adotávamos o critério, aliás lógico, de considerar sem valor um resultado negativo obtido numa fase muito precoce da suposta prenhez, repetindo a prova, nesses casos, numa época mais avançada da mesma, quando a égua inspecionada não nos fornecia sinais seguros de ausência de prenhez.

Apesar de sermos obrigados a orientar as nossas pesquisas, pela maneira acima mencionada, poderemos observar, que embora a maioria dos nossos resultados, se enquadra dentro daquele período estabelecido pela maior parte dos autores, isto é, do 49.º ao 84.º dias, uma boa percentagem dos mesmos foi obtida aquém do 49.º dia.

Dêsse modo, os resultados positivos que obtivemos, em número de 127 (112 confirmados acrescidos dos 15 falsos positivos), podem ser assim distribuídos:

1 — Cinquenta e seis (56) dêles, ou seja 44,09%, foram obtidos antes do 49.º dia da última cobertura. Será interessante aqui frizar, que 33 dêses resultados, ou seja 25,98%, são de reações obtidas antes do 45.º dia.

2 — Os 71 restantes, ou seja 55,90%, são o resultado de reações efetuadas após o 49.º dia, sendo que somente três (3) dêles foram obtidos além do 84.º dia. (Vêr éguas: n.º 6, E.M. 45-46, com 125 dias; n.º 19, E.M. 47-48, com 108 dias e n.º 20, E.M. 45-46, com 90 dias).

Quanto aos resultados obtidos mais precocemente, assinalamos um com 36 dias (égua n.º 51, E.M. 47-48). Amostras de sôro, da égua n.º 33 (E. M. 46-47), deram resultados negativos com 20 (duas reações) e 30 dias, apesar de obtermos reação positiva no 41.º dia da última cobertura. Os dois únicos resultados tidos como duvidosos (éguas n.º 5, E.M. 47-48, e n.º 21, E.M. 46-47), foram obtidos com 36 e 35 dias da última cobertura, respectivamente; resultaram positivas as reações efetuadas no 52.º dia para a égua n.º 5 e no 40.º dia para a de n.º 21. Por outro lado, 16 dos 127 resultados positivos, deram, pelo menos, uma reação negativa antes do 49.º dia.



No que se refere à repetição de uma prova já positiva, numa data mais avançada da prenhez, temos que assinalar unicamente três casos; em dois deles sempre obtivemos resultados positivos (égua n.º 26, E.M. 47-48, provas positivas com 43 — 52 e 93 dias e n.º 52, E.M. 47-48, provas positivas com 51 e 69 dias de prenhez), ao passo que a égua n.º 20 (E.M. 47-48), da qual possuíamos uma prova positiva com 47 dias, deu reação negativa no 96.º dia, muito embora viessemos a confirmar, posteriormente, pelo parto, a primeira dessas reações.

#### FALSOS RESULTADOS — EFICÁCIA DO MÉTODO

Num total de 185 resultados obtivemos 15 falsos positivos e 1 falso negativo. Não consideramos como falha do método os resultados falsos positivos, uma vez que devemos atribuir como causa dos mesmos a ocorrência, quer de aborto não observado, quer da morte do feto com conseqüente reabsorção, em data posterior àquela em que se obteve a prova positiva. COLE e HART<sup>(20)</sup>, MAYER<sup>(24)</sup>, ARNOLD<sup>(18)</sup>, tecem considerações a êsse respeito. O único caso falso negativo é aquele correspondente à égua n.º 20 (E.M. 48-49), da qual obtivemos duas reações negativas, uma no 48.º e outra no 80.º dias da última cobertura, muito embora viesse a referida égua a abortar algum tempo depois.

A parte referente à percentagem de eficácia do método pode ser encarada sob dois pontos de vista. Assim, se os 15 resultados falsos positivos não forem considerados como falha do método, o que é mais lógico admitir, dado o que acabamos de expôr, pode-se verificar que a referida percentagem atinge a 99,45%, isto é, num total de 185 resultados, encontra-se um único discordante. No entretanto, essa percentagem será igual a 91,35% se adotarmos o ponto de vista contrário (16 resultados discordantes, num total de 185).

#### POSITIVIDADE DA PROVA APÓS O ABORTO

Queremos aqui deixar assinalada uma observação que tivemos a oportunidade de fazer sobre o assunto referido no título acima.

Trata-se da égua n.º 37 (E.M. 47-48), que veio a abortar no 74.º dia da prenhez. Deram resultados positivos as provas efetuadas no 8.º e 25.º dias após o aborto, obtendo-se resultado negativo na prova realizada no 43.º dia após a ocorrência do mesmo. ARNOLD<sup>(18)</sup>, ao tratar da questão, muito embora não tivesse a oportunidade de fazer observações a respeito, emite a hipótese, segundo a qual deve-se obter um resultado negativo imediatamente após o aborto. Pelo que verificamos, no único caso que tivemos a felicidade de acompanhar, a hipótese do autor referido merece contestação.

## RESUMO

Descreve-se neste trabalho a utilização da prova da ovulação da coelha, no diagnóstico da prenhez da égua puro sangue inglês, durante quatro estações de monta.

A técnica desenvolvida foi a preconizada pela maioria dos autores que no assunto têm trabalhado, acrescida de algumas modificações.

Um total de 77 éguas foi submetido à prova, tendo-se efetuado 233 reações, para a obtenção de 185 resultados. A confirmação desses resultados foi feita posteriormente: a) pelo parto ou sua ausência; b) pelo aborto; c) pela volta do cio; d) nos casos em que ocorreu a morte da égua inspecionada, a confirmação foi efetuada pela necrópsia da mesma.

Dos 185 resultados obtidos, 169 foram concordantes e 16 discordantes; sendo estes últimos constituídos por 15 falsos positivos e 1 falso negativo.

Dos resultados positivos, 44,09% foram obtidos antes do 49.º dia da última cobertura. Devemos assinalar que 25,98% desses últimos resultados, pertence a reações efetuadas antes do 45.º dia. Os demais resultados positivos, perfazendo 55,90%, correspondem àquelas reações levadas a efeito após o 49.º dia, sendo que somente três delas ultrapassaram o 84.º dia da última cobertura.

A percentagem de eficácia do método, será igual a 99,45%, caso não considerarmos os 15 resultados falsos positivos como falha do método. No caso contrário, ela terá o valor de 91,35%.

Em um único caso estudado, as provas efetuadas após a ocorrência de aborto, foram positivas no 8.º e 25.º dias após o mesmo, sendo negativas, aquelas efetuadas posteriormente.

## SUMMARY

Experiments with the rabbit ovulation test, for the diagnosis of pregnancy in the thoroughbred mares, were carried out during four breeding seasons (1945-46 to 1948-49).

The method used in this work includes some modifications indicated by the authors' experimental results.

During this investigation, a total of 233 tests were applied to blood specimens collected from 77 individual mares at different stages of the gestation period. One hundred and eighty-five results were obtained. From these, 127 had been given as positive and 58 as negative. Fifteen out of 127 positive reacting mares did not foal, and from the 58 negative reactors one foaled subsequently.

From the 127 positive results, 44.09 per cent were obtained before the 49th day after breeding and 55.90 per cent were obtained between the 49th. and 84th day after last service. Only three mares were bled after the 84th day.

If the 15 false positive results are not interpreted as a failure of the test, an accuracy of 99.45 per cent will be reported, but in the contrary case, the test will be proved correct in 91.35 per cent.

In one instance, the blood samples gave positive results when they were collected at the 8th and 25th day after the abortion, being negative when they were retested at the 43th day.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1 — COWIE, A. T. — 1948 — Pregnancy diagnosis tests: a review. Great Britain Commonwealth Agricultural Bureaux, Joint Publication n.º 13
- 2 — COLE, H. H. — HART, G. H. — 1930 — The potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat. *Amer. J. Physiol.*, 93:57-68
- 3 — COLE, H. H. — HART, G. H. — 1930 — Sex hormones in the blood serum of mares. II. The sera of mares from the 222nd day of pregnancy to the first heat period post-partum. *Amer. J. Physiol.*, 94:597-603
- 4 — HART, G. H. — COLE, H. H. — 1932 — A practical method for the diagnosis of pregnancy in the mare. *J. A. V. M. A.*, 80:604-14
- 5 — TABARELLI NETO, J. F. — 1948 — O sapo macho como animal reagente no diagnóstico precoce da prenhez em éguas (Nota prévia). Apresentado ao IV Congresso Brasileiro de Veterinária, Rio de Janeiro, 1948
- 6 — SCHWEITZER, F. L. — BAS, J. A. — 1948 — Nueva reacción diagnóstica de la preñez de yeguas utilizando el sapo macho. *Rev. Soc. Arg. Biol.*, Bs. Aires, 24 (3):344-54
- 7 — TABARELLI NETO, J. T. — 1949 — The reaction of the male toad to pregnant mare's serum and its comparative study with the Cole-Hart test. *Am. J. Vet. Res.*, 10 (34):74-6
- 8 — CASTELLI, F. — 1949 — La prova di Galli-Mainini sul maschio di "Rana esculenta" nella diagnosi di gravidanza della cavalla. *Nuova Veterinaria*, 25(1):6-10
- 9 — BRAZEL, E. — 1950 — New fast diagnosis of early pregnancy in mares. *Deutsch. Tier. Woch.*, 57:62. "in" *Vet. Med.*, 45(7):299
- 10 — CATCHPOLE, H. R. — 1934 — Increasing breeding efficiency on stud farms through pregnancy diagnosis. *Vet. J.*, 90:493-98
- 11 — MAGNUSON, H. — 1934 — Om gravidetsdiagnos hos sto genom blodserum. *Skand. Vet.*, — *Tidskr.*, 24:141-57. "cit." Cowie, A. T., ref. 1
- 12 — MAGNUSON, H. — 1934 — Le diagnostic de la gestation chez la jument au moyen du sérum sanguin. *Rev. gén. Méd. Vét.*, 43:321-36
- 13 — MAGNUSON, H. — 1936 — Die trächtigkeitsdiagnose bei Stuten nach der Friedman-Schneiders metod (FSR). *Z. Inf. Krkh. Haustiere*, 48(3):155-85. "in" *Biol. Absts.*, 11(8473):894, 1937
- 14 — MAGNUSON, H. — 1935 — Drähtighetsdiagnosen hos sto enligt Friedman-Schneiders metod (FSR). *Skand. Vet.-Tidskr.*, 25:346-78. "in" Cowie, A. T., ref. 1

- 15 — MARTENSSON, T. — 1934 — Biologisk dräktichetsdiagnostik a ston. En försöksserie om 53 porv fran Farmakologiska Institutionen I Lund 1933. *Skand. Vet.-Tidskr.*, **24** (3):158-62. "in" *Biol. Absts.*, **9**(5204):593, 1935
- 16 — LOYOLA, F. — 1935 — Diagnostico precoz del embarazo de la yegua mediante la reacci6n de Friedman. *Bol. Min. Agric.*, Santiago de Chile, **4**(5):151-224
- 17 — ARNOLD, J. J. — 1936 — Results of a rabbit ovulation test for equine pregnancy. (Preliminary report). *North Am. Vet.*, **17**(2):23-5
- 18 — ARNOLD, J. J. — 1937 — A rabbit ovulation test for equine pregnancy. (Report of the second and third years' work.) *Vet. Med.*, **32**(7):324-27
- 19 — COLE, H. H. — 1937 — Hormones concerned with reproduction, their use as therapeutic agents and in pregnancy diagnosis. *Univ. Penn. Bull.*, **37**(66):4-20
- 20 — COLE, H. H. — HART, G. H. — 1942 — Diagnosis of pregnancy in the mare by hormonal means. *J. A. V. M. A.*, **101**(785):124-28
- 21 — SACHWEH, P. — 1943 — Anterior pituitary hormone in the serum of pregnant mares. *Tier Rdsch.*, **49**:1-4. "in" *Vet. Bull.*, **18**(1):33, 1948
- 22 — FRIEDMAN, M. H. — 1929 — Effect of injections of urine from pregnant women on ovary of the rabbit. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **26**:720-21
- 23 — FRIEDMAN, M. H. — 1929 — The mechanism of ovulation in the rabbit. II. Ovulation produced by the injection of urine from pregnant women. *Amer. J. Physiol.*, **90**: 617-22
- 24 — MAYER, D. T. — 1944 — A comparative study of two biologic and two chemical techniques of pregnancy diagnosis in the mare. *Am. J. Vet. Res.*, **5**(16):209-14